

AVALIAÇÃO DO USO DE BIOMASSA BACTERIANA IMOBILIZADA NA BIORSORÇÃO DE TERRAS-RARAS LEVES E MÉDIAS

N. V. COIMBRA, M. NASCIMENTO, E. C. GIESE*

Centro de Tecnologia Mineral (CETEM), Rio de Janeiro, Brasil
egiese@cetem.gov.br*

Submetido 18/10/2017 – Aceito 28/11/2017

DOI: 10.15628/holos.2017.6445

RESUMO

A busca por fontes alternativas de recuperação e separação dos elementos puros de terras-raras (TRs) é vista como uma ação prioritária e estratégica por diversos países demandantes desses elementos. Em alternativa aos processos clássicos de extração de TRs, o processo de biossorção vem sendo avaliado, em uma combinação da biotecnologia e metalurgia extrativa. Sendo assim, o presente trabalho buscou avaliar a capacidade da biomassa imobilizada da bactéria *Bacillus subtilis* na biossorção de lantânio (TR leve) e samário (TR médio), visando seu uso na separação desses elementos. As maiores porcentagens de biossorção de lantânio (La) e samário (Sm) em sistemas mono-elementares corresponderam à 94,4% e 94,9%, respectivamente, a partir de concentrações iguais (C_i) à

15 mg/L. Em soluções com $C_i = 100$ mg/L, 89,3% de La e 91,9% de Sm foram biossorvidos. O mesmo comportamento pode ser observado para a solução bi-elementar La+Sm, onde 79,9% de La e 88,8% de Sm foram biossorvidos em soluções com $C_i = 15$ mg/L, e, 69,4% de La e 83,4% de Sm foram biossorvidos em $C_i = 100$ mg/L. A aplicação dos dados obtidos aos modelos de adsorção de Langmuir e Freundlich demonstrou que as isotermas de adsorção obtidas para La e Sm em ambos os sistemas avaliados foram satisfatórias para ambos os modelos, sugerindo a ocorrência da biossorção em monocamada assim como condições heterogêneas na superfície, onde ambas condições podem co-existir sob as condições experimentais testadas.

PALAVRAS-CHAVE: *Bacillus subtilis*, imobilização celular, alginato de cálcio, biossorção, terras-raras

EVALUATION OF THE USE OF BACTERIAL IMMOBILIZED BIOMASS IN LIGHT AND MEDIUM RARE-EARTH ELEMENTS BIOSORPTION

ABSTRACT

The search for alternative sources of recovery and separation of pure rare earth elements (REE) is a priority and strategic action by several countries demanding these elements. As an alternative to classical processes of extraction of REE, the biosorption process has been evaluated in a combination between biotechnology and extractive metallurgy. Therefore, the present work aimed to evaluate the capacity of immobilized biomass of *Bacillus subtilis* to the biosorption of lanthanum (light REE) and samarium (medium REE), aiming its use in the separation of these elements. The highest percentages of lanthanum (La) and samarium (Sm) biosorption in single-element systems corresponded to 94.4% and 94.9%, respectively, from an initial concentration (C_i) of

15 mg/L. In solutions with $C_i = 100$ mg/L, 89.3% of La and 91.9% of Sm were biosorbed. The same behavior can be observed for the bi-elemental solution La + Sm, where 79.9% of La and 88.8% of Sm were biosorbed in solutions of $C_i = 15$ mg/L, and 69.4% of La and 83.4% of Sm were biosorbed in $C_i = 100$ mg/L. The application of the data obtained to the adsorption models of Langmuir and Freundlich showed that the adsorption isotherms obtained for La and Sm in both systems were satisfactory for both models, suggesting the occurrence of monolayer biosorption as well as heterogeneous surface conditions, where both conditions can co-exist under the experimental conditions tested.

KEYWORDS: *Bacillus subtilis*, cell immobilization, calcium alginate, biosorption, rare-earth elements

1 INTRODUÇÃO

O alto custo dos processos de separação dos elementos de terras raras (TRs) visando à obtenção de compostos mais puros acaba por elevar o valor de mercado destes elementos, pois, em geral, estes processos envolvem várias etapas de extração por solventes e/ou o uso de resinas de troca-iônica e tais tecnologias poucos países as dominam (Silva Júnior & Campos, 2016, Vera, 2015). A troca iônica é preferencial para o polimento dos produtos obtidos da lixiviação e extração por solventes, devido à baixa concentração das TRs a serem retiradas da solução (Fernández & García Alonso, 2008, Streat, 1986, Texier *et al.*, 2002).

Em alternativa aos métodos clássicos, a biossorção tem sido descrita na literatura científica como um bioprocessamento com potencial para a recuperação das TRs por diferentes espécies microbianas (Andrès *et al.*, 2000, Das, 2010, Das *et al.*, 2014, Muraleedharan *et al.*, 1994, Takahashi *et al.*, 2005, Takahashi *et al.*, 2010, Tsuruta, 2002, 2005, 2006a, 2006b, 2007). A biossorção consiste num processo de adsorção que se refere a ligação passiva de íons metálicos por biomassa viva ou morta. Entretanto, estudos revelam que se pode ter uma melhor eficiência no processo biossorbitivo, quando os micro-organismos são imobilizados em matrizes porosas (Arica *et al.*, 2004, Corrêa *et al.*, 2017, Giese *et al.*, 2016).

A tecnologia de imobilização celular consiste no confinamento físico das células em uma região definida de espaço para uso em processos biotecnológicos de operação contínua ou descontínua possibilitando a reutilização das mesmas (Covizzi *et al.*, 2007, Giese, 2015a, b). A maioria dos processos fermentativos industriais convencionais utiliza células livres em suspensão, porém o uso de microrganismos imobilizados permite um aumento da produtividade devido à elevada concentração de células (Freeman & Lilly, 1998) e, no caso dos processos de biossorção, um aumento na eficiência da recuperação de elementos metálicos devido ao aumento da presença de grupos funcionais (Michalak *et al.*, 2013).

Tendo em vista a possibilidade da aplicação dos biossorbentes na recuperação de TR sem soluções diluídas, este trabalho teve como objetivo determinar a saturação do biossorbente constituído pela biomassa da bactéria *Bacillus subtilis* imobilizada em matriz de gel de alginato de cálcio e enquadrar os dados de equilíbrio em modelos de isotermas de adsorção dos elementos lantânio (La) e samário (Sm) em regime de batelada.

2 ASPECTOS TEÓRICOS

O alginato é um polissacarídeo linear constituído por unidades de ácido manurônico e ácido gulurônico, unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4) e α -(1 \rightarrow 4), respectivamente. Estes polissacarídeos podem ser isolados a partir de algas marrons ou também produzidos por bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Azotobacter*. As propriedades mecânicas das esferas de gel de alginato obtidas dependem basicamente de sua composição monomérica e do grau de polimerização, sendo que a capacidade de formar gel depende da presença de íons divalentes como Ca^{2+} ou Mg^{2+} assim como de resíduos de ácido gulurônico (Fraser & Bickerstaff, 1997).

As esferas de alginato são comumente obtidas através da técnica do gotejamento de solução de alginato de sódio (2-5 %, m/v) contendo células microbianas em solução de cloreto de

cálcio (CaCl_2) utilizando-se uma bomba peristáltica, conforme ilustrado na Figura 1. A formação do gel de alginato de cálcio consiste em uma reação denominada gelificação iônica, na qual os íons Ca^{2+} em solução se ligam aos resíduos de guluronato ou manurato (Giese, 2015b). A alta concentração da matriz polimérica favorece a formação de esferas compactas com superfícies uniformes, as quais apresentam alta resistência mecânica e estabilidade tanto durante o processo fermentativo quanto durante o tempo de estocagem (Culpi *et al.*, 2010, Vos *et al.*, 2009).

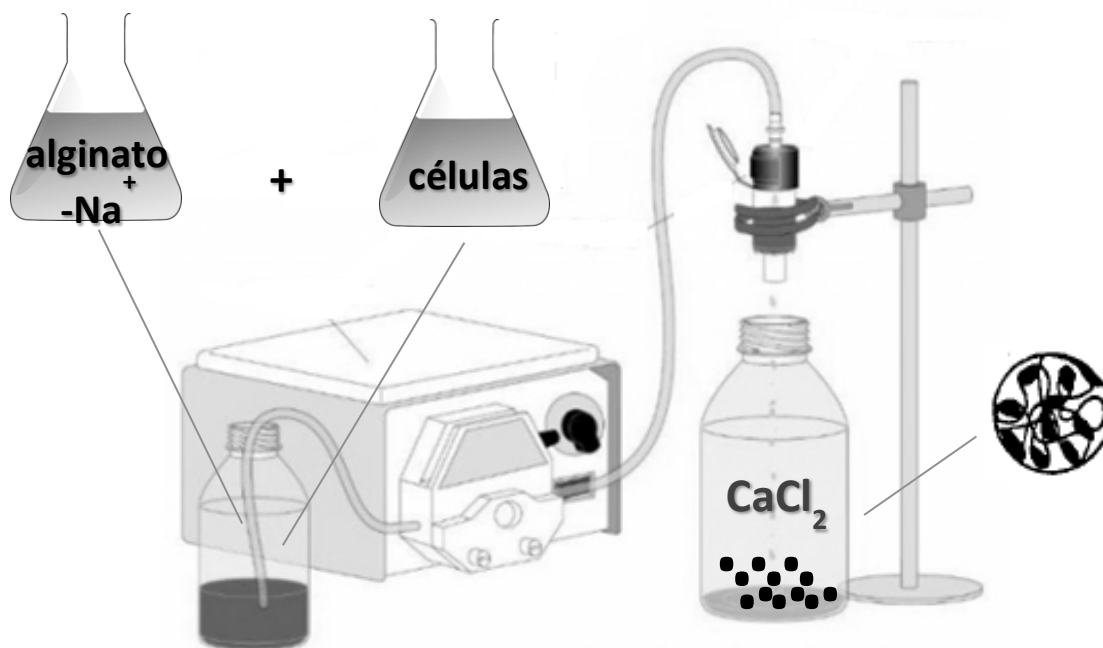


Figura 1: Técnica de gotejamento para imobilização celular em matriz de alginato de cálcio (Giese, 2015b).

Micro-organismos imobilizados em gel de alginato de cálcio vêm sendo utilizados em diversas aplicações biotecnológicas tais como fermentações para a produção de biocombustível, fármacos, vitaminas, entre outros (Giese, 2015a); em processos de biorremediação, biolixiviação e tratamento de drenagem ácida de mina (Giese, 2015b); assim como em processos de biossorção de metais pesados e TRs (Aricaet *et al.*, 2004, Corrêa *et al.*, 2017, Michalak *et al.*, 2013).

O gel de alginato de cálcio é considerado um biossorvente eficaz para TRs, tais como lantânio (La) e neodímio (Nd). Wang *et al.* (2013) sintetizaram um gel de alginato-ácido γ -poliglutâmico (PGA) que apresentou capacidade máxima de adsorção ($q_{\text{máx}}$) de 1,65 mmol Nd/g e capacidade de reutilização por até oito ciclos consecutivos de absorção-dessorção sem danos ao gel. Em outro estudo, os pesquisadores compararam a $q_{\text{máx}}$ de adsorção de La pelo gel de alginato e pelo gel de alginato-PGA. As isotermas avaliadas resultaram em um valor de $q_{\text{máx}}$ de 0,59 mmol La/g para o gel de alginato e de 1,18 mmol La/g para o gel de alginato-PGA. Através de análises de espectroscopia de infravermelho (FT-IR) ficou demonstrado que a adição de PGA tornou as esferas de gel de alginato mais porosas e suscetíveis à adsorção-complexação com La (Xuet *et al.*, 2015).

Por outro lado, o uso de biossorventes formados pela adição de células microbianas à matriz de alginato tem favorecido o aumento da eficiência dos processos de biossorção destes elementos. Os micro-organismos são amplamente estudados quanto ao seu potencial como biossorventes por apresentarem uma área superficial elevada em relação ao seu pequeno tamanho, o que facilita o processo de adsorção dos íons metálicos presentes em solução (Vijayaraghavan & Yun, 2008).

O estudo cinético da biossorção de La, em concentrações entre 10 e 100 mg/L, pelas biomassas imobilizadas em gel de alginato das microalgas *Ankistrodesmus* sp. e *Golenkinia* sp., demonstraram que o biossorvente imobilizado teve o mesmo comportamento das células livres, sendo que o equilíbrio cinético foi alcançado rapidamente nos primeiros minutos em contato. Porém, quando analisados os dados das isothermas no equilíbrio, a $q_{m\acute{a}x}$ aumentou de 100 mg La/L (0,72 mmol La/L) para 150 mg La/L (1,08 mmol La/L) para as biomassas livres e imobilizadas de *Ankistrodesmus* sp., respectivamente; e, de 100 mg La/L (0,72 mmol La/L) para 50 mg La/L (0,36 mmol La/L) para as biomassas livres e imobilizadas de *Golenkinia* sp., respectivamente (Corrêa, et al., 2017).

Dentre as cepas bacterianas estudadas como biossorventes de TRs destacam-se as pertencentes aos gêneros *Bacillus* (Takahashi et al., 2005, Tsuruta, 2007), *Streptomyces* (Tsuruta, 2006a), *Pseudomonas* (Andrès et al., 2000, Texier et al., 2002) e *Myxococcus* (Merroun et al., 2003).

A parede celular da bactéria *B. subtilis* apresenta um sítio de ligação específico para TRs, o qual apresenta menor afinidade para TRs leves e maior afinidade para TRs pesadas, especialmente quando o processo de biossorção é conduzido na faixa de pH entre 2,5 e 4,5 (Martinez et al., 2014). Esta preferência na biossorção ocorre devido às TRs se ligarem aos sítios ativos da *B. subtilis* através da formação de complexos com grupos fosfato por ligações do tipo fosfoéster, sendo que as ligações com TRs pesadas apresentam um número de coordenação maior com o fosfato que as ligações com TRs leves (Takahashi et al., 2010).

Porém, estudos utilizando biossorventes formados pela combinação de biomassa bacteriana e gel de alginato para aplicação na biossorção de TRs são ainda escassos, sendo necessária a investigação das condições ideais para que este tipo de biossorvente possa ser utilizado para esta finalidade.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A partir de placas de Petri pré-existentes contendo a biomassa de *B. subtilis*, uma alçada desta colônia foi transferida para frascos Erlenmeyer de 500mL contendo 200mL de meio de cultivo (extrato de levedura, 5 g/L; triptona de soja (TSB), 30 g/L), os quais foram mantidos sob agitação constante a 150 rpm durante 72h à 30°C, para o crescimento das bactérias. Após este período, o cultivo foi interrompido e distribuído em tubos Falcon de 50mL para centrifugação a 4000 rpm por 15 min em temperatura ambiente.

A biomassa sedimentada recebeu pré-tratamento com solução de NaCl 1M durante 1h. A etapa de imobilização celular foi realizada a partir da mistura das células de *B. subtilis* a 120 mL de solução de alginato de sódio 2% m/v. Com auxílio de uma bomba peristáltica, foram gotejados

10 mL de solução de alginato de sódio + *B. subtilis* em um frasco de Erlenmeyer de 125 mL contendo 15 mL de solução CaCl₂ 1M.

Os experimentos de bioadsorção em batelada foram realizados a partir de soluções sintéticas de cloretos de La e Sm, com sistemas mono-elementares (La ou Sm, separadamente) e bi-elementares (La+Sm). Nos ensaios de bioadsorção, para cada concentração inicial das espécies estudadas, foram realizados testes em duplicata. Cada Erlenmeyer contendo cerca de 1,10 g de bioadsorvente *B. subtilis*-alginato recebeu 20 mL de solução de TRs. Em seguida os Erlenmeyers foram submetidos à agitação constante por 1h a 100 rpm e 30°C. Para a construção das isotermas de adsorção, as seguintes concentrações de TRs foram avaliadas: 15, 30, 50, 75 e 100 mg/L. A determinação da concentração final de La e Sm em solução foi realizada utilizando espectrometria de emissão óptica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES, marca Horiba, modelo ULTIMA 2).

O processo de bioadsorção foi expresso pela capacidade de adsorção (q) do bioadsorvente *B. subtilis*-alginato em miligramas de TRs adsorvidos por grama de massa seca do bioadsorvente (mg TR/g) e pela eficiência de remoção (%) de TRs, as quais foram calculadas através de Equações (1) e (2), respectivamente (Kratochvil & Volesky, 1998).

$$q = \left(\frac{C_i - C_e}{m} \right) \cdot V \quad (1)$$

$$\% = \left(\frac{C_i - C_e}{C_i} \right) \cdot 100 \quad (2)$$

em que, C_i é a concentração inicial de TRs em solução (mg/L); C_e é a concentração em equilíbrio de TRs em solução (mg/L); m é a massa do bioadsorvente na mistura reacional (g); V é o volume da mistura reacional (L).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade de adsorção e a força com a qual as TRs se ligam aos materiais bioadsorventes podem ser avaliadas quantitativamente através de isotermas. As isotermas de adsorção fornecem informações importantes sobre o mecanismo de bioadsorção, através de parâmetros de ajustes obtidos de modelos matemáticos que os representam tais como Langmuir e Freundlich (Das, 2010). A eficiência da bioadsorção dependerá principalmente de parâmetros como concentração dos íons, concentração de biomassa bioadsorvente, pH da solução e temperatura.

A avaliação quantitativa da bioadsorção de La e Sm pelo bioadsorvente *B. subtilis*-alginato foi realizada através de experimentos em diferentes concentrações iniciais de La e Sm como descrito nas Tabelas 1 e 2. Pode-se observar que a eficiência de remoção em % de La e Sm não apresentou alteração significativa ($p < 0,05$) com o aumento das concentrações iniciais destas TRs em solução.

Tabela 1: Capacidades de biossorção e % de diferentes concentrações iniciais ($C_{inicial}$) de La para o biossorvente *B. subtilis*-alginato.

$C_{inicial}$ de La (mg/L)	q (mg/g)	Biossorção (%)
22,3	19,12 ±0,19	94,39±0,95
37,2	31,38 ±0,45	92,88±1,33
51,8	43,73 ±0,19	92,95±0,41
93,2	77,52 ±0,45	91,58±0,53
100	81,10 ±0,64	89,30±0,71

Tabela 2: Capacidades de biossorção e % de diferentes concentrações iniciais ($C_{inicial}$) de Sm para o biossorvente *B. subtilis*-alginato.

$C_{inicial}$ de Sm (mg/L)	q (mg/g)	Biossorção (%)
14,7	12,67±0,03	94,90±0,19
24	20,71±0,00	95,00±0,00
48,7	41,91±1,09	94,76±2,47
68,7	57,58±0,26	92,29±0,41
100	83,51±0,83	91,95±0,92

Porém, a capacidade de adsorção (q) para estes elementos aumentou em função do aumento da concentração de TRs em torno de 81,10 mg La/g (0,58 mmol La/g) e 83,51 mg Sm/g (0,56 mmol Sm/g). Estes resultados indicam que possivelmente sítios energeticamente menos favoráveis se envolvem no processo de biossorção quando a concentração de TR em solução aumenta. A captação de TR poderia então ser creditada a diferentes mecanismos de troca-iônica ou de adsorção; e tanto o gel de alginato de cálcio utilizado como suporte ou a biomassa da bactéria *B. subtilis* podem estar contribuindo na performance de biossorção das TRs avaliados. Acredita-se que uma investigação mais aprofundada deve ser realizada para esclarecimentos sobre os mecanismos físicos, químicos ou biológicos envolvidos.

Os estudos de equilíbrio da biossorção de La e Sm pelo biossorvente *B. subtilis*-alginato foram processados utilizando modelos de isotermas de Langmuir (Langmuir, 1918) e Freundlich (Freundlich, 1906). A isoterma de Langmuir é utilizada para uma sorção em monocamada na superfície da partícula, a qual contém um determinado número de sítios livres para realizar a biossorção, e pode ser expressa pela Equação (3).

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_m K_L} + \frac{1}{K_L} C_e \quad (3)$$

onde C_e é a concentração da TR em solução no equilíbrio (mg/L); Q_e é quantidade de TR adsorvida por grama do biossorvente (mg/g); Q_m é uma constante relacionada com a energia de adsorção (L/mg) e K_L é a constante de Langmuir da capacidade de adsorção teórica na monocamada (L/g).

A isoterma de Freundlich está baseada na sorção de superfícies heterogêneas, e é dada pela Equação (4).

$$\log (w/z) = \log K + (1/n) \log (C_e) \quad (4)$$

onde w é a massa da TR em solução (mg); z é a massa do biossorvente (g); C_e é a concentração da TR em solução no equilíbrio e K e n são constantes de Freundlich relacionadas a capacidade de adsorção e a intensidade de adsorção respectivamente.

A capacidade de adsorção das espécies iônicas de La e Sm pelo biossorvente *B. subtilis*-alginato em sistemas mono-elementares, ou seja, sistemas contendo as TRs avaliadas separadamente, estão apresentadas na Figura 2.

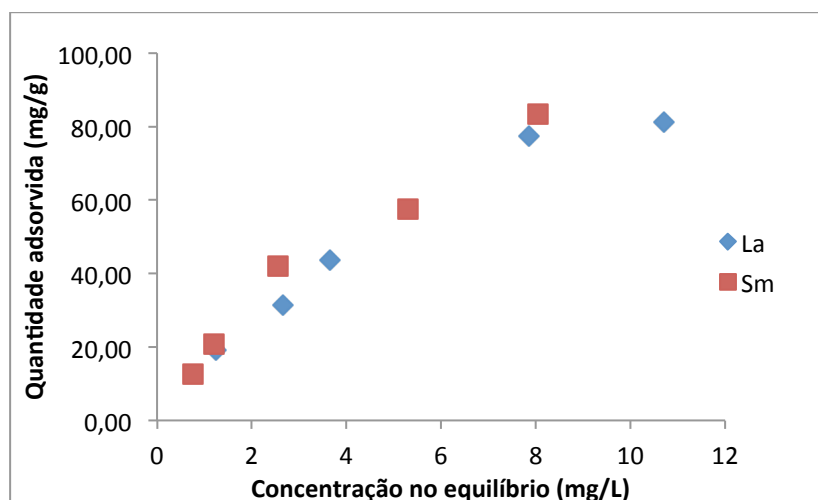


Figura 2: Capacidade de adsorção das espécies La e Sm pelo biossorvente *B. subtilis*-alginato em sistemas mono-elementares.

De acordo com os dados apresentados na Figura 2, o biossorvente *B. subtilis*-alginato aparentou exibir uma leve preferência pela sorção de TRs médias em relação às TRs leves ($Sm > La$). Esta preferência também foi observada na Figura 3, a qual apresenta isoterma de adsorção das espécies iônicas de La e Sm em sistemas bi-elementares, ou seja, sistemas contendo as TRs avaliadas conjuntamente.

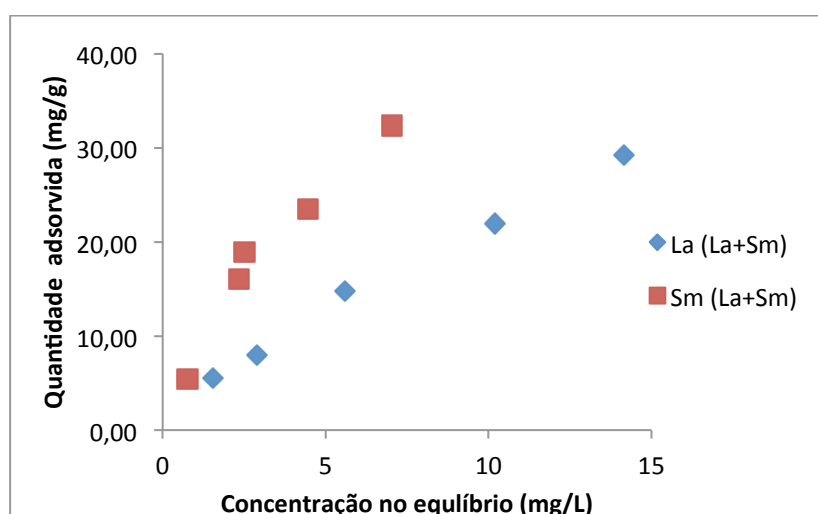


Figura 3: Capacidade de adsorção das espécies La e Sm pelo biossorvente *B. subtilis*-alginato em sistemas bi-elementares.

Porém, a afinidade do material bioissorvente pelas TRs deve ser avaliada pelo ajuste dos dados experimentais de bioissorção aos modelos de isotermas previamente descritas. Os parâmetros das isotermas de Langmuir e de Freundlich, calculados para todas as espécies testadas nos sistemas mono- (La ou Sm) e bi-elementares (La+Sm) estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros de Langmuir e Freundlich para a bioissorção de La e Sm pelo bioissorvente *B. subtilis*-alginato.

Isotermas	Adsorvato	Sistemas mono-elementares		Sistemas bi-elementares	
		La	Sm	La (La+Sm)	Sm (La+Sm)
Langmuir	Q_m (L/mg)	0,10	0,12	0,05	0,12
	K_L (L/g)	161,3	166,7	66,2	69,4
	R^2	0,94	0,91	0,89	0,88
	R_L	0,06	0,05	0,22	1,04E-01
Freundlich	K	1,06	1,10	1,22	1,16
	n	0,97	0,98	0,93	0,97
	1/n	1,03	1,02	1,08	1,03
	R^2	0,99	0,99	0,99	0,99

O parâmetro K_L nos ensaios em sistemas mono-elementares apresentou valores expressivos (161,3 L/g para La e 166,7 L/g para Sm), representando grande afinidade do bioissorvente pelas TRs quando avaliadas separadamente. Nos ensaios bi-elementares, os valores do parâmetro K_L diminuíram quase 3 vezes (66,2 L/g para La e 69,4 L/g para Sm).

Os valores obtidos para K_L demonstraram que o Sm é removido da solução e adsorvido mais rapidamente que o La. Entretanto, os valores calculados para este parâmetro são muito similares de maneira que os mesmos não são suficientes para inferir tal informação. No caso da bioissorção de La e Nd pela macroalga *Sargassum* sp., os valores de K_L obtidos foram maiores para La (505,11 L/g) em comparação com Nd (481,80 L/g), demonstrando a preferência da alga marrom pela adsorção de TRs leves (Oliveira *et al.*, 2012).

As regressões lineares apresentaram boas aproximações, conforme pode ser observado em seus coeficientes de correlação (R^2) em ambas as isotermas para os dois sistemas avaliados. Pode-se observar que o modelo de isoterma de Langmuir se adaptou adequadamente aos pontos experimentais quando as espécies iônicas La e Sm foram tratadas isoladamente, pois apresentaram valores de R^2 entre 0,94 e 0,91, respectivamente. No caso da bioissorção destas TRs em sistemas bi-elementares, a competição de La e Sm pelos sítios ativos de adsorção presentes no bioissorvente *B. subtilis*-alginato, em todos os contatos, pode ter feito com que os ajustes para esse modelo testado apresentassem valores menores em termos de R^2 (0,89 para La e 0,88 para Sm).

Para o modelo de isoterma de Freundlich, os valores de R^2 para La e Sm em ambos os sistemas mono- e bi-elementares foram iguais à 0,99, apresentando melhor ajuste dos dados experimentais. Os valores de n encontrados, relativo à distribuição das espécies iônicas de La e Sm ligadas aos sítios ativos do bioissorvente avaliado, foram bem próximos à 1, porém um pouco ainda menores. Uma adsorção favorável apresenta valores para a constante n entre 1 e 10, sendo

que valores mais baixos indicam uma menor interação entre o material bioissorvente e o soluto avaliado (Loukidou *et al.*, 2004). O processo de bioissorção em questão foi mais favorável de acordo com a isoterma de Langmuir, uma vez que todos os valores de R_L se apresentaram dentro da faixa de valores $0 < R_L < 1$, onde a adsorção é considerada favorável (Langmuir, 1918).

Os valores apresentados para os parâmetros K_L e R^2 , portanto, indicam que o bioissorvente avaliado apresenta afinidade muito semelhante para La e Sm. A diferença entre os valores dos parâmetros para as TRs, discretamente maiores para Sm, não foi significativa ($p < 0,05$); desta maneira os mesmos não foram suficientes para descrever a seletividade de TRs leves e médias pelo bioissorvente avaliado.

5 CONCLUSÕES

O estudo demonstra o potencial de aplicação da biomassa da bactéria *B. subtilis* suportada em alginato de cálcio como um bioissorvente para La e Sm em soluções aquosas diluídas. A aplicação dos dados obtidos aos modelos de adsorção de Langmuir e Freundlich mostrou que as isotermas de adsorção obtidas para La e Sm foram satisfatórias para ambos os modelos, sendo que este processo de bioissorção apresentou melhor ajuste dos dados experimentais de acordo com o modelo de Freundlich e demonstrou ser favorável pelo modelo de Langmuir. Isto sugere a ocorrência da bioissorção em monocamada assim como condições heterogêneas na superfície, onde ambas condições podem co-existir sob as condições experimentais testadas. Maiores estudos serão necessários para descrever a afinidade do bioissorvente *B. subtilis*-alginato pelas TRs estudadas.

6 AGRADECIMENTOS

À FAPERJ e CNPq pelo apoio à realização do projeto. N Coimbra agradece ao programa PCI/CNPq/CETEM pela bolsa concedida.

7 REFERÊNCIAS

- Andrès, Y., Thouand, G., Boualam, M., & Mergeay, M. (2000). Factors influencing the biosorption of gadolinium by micro-organisms and its mobilisation from sand. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54, 262-267.
- Arica, Y., Bayramoglu, G., Yilmaz, M., Bekta, S., & Genç, Ö. (2004). Biosorption of Hg^{2+} , Cd^{2+} , and Zn^{2+} by Ca-alginate and immobilized wood-rotting fungus *Funalia trogii*. *Journal of Hazardous Materials*, B109, 191-199.
- Corrêa, F. N., Luna, A. S., & Costa, A. C. A. (2017). Kinetics and equilibrium of lanthanum biosorption by free and immobilized microalgal cells. *Adsorption Science & Technology*, 35, 137-152.
- Covizzi, L. G., Giese, E. C., Gomes, E., Dekker, R. F. H., & Silva, R. (2007). Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, 28, 143-160.

- Culpi, T. A., Pasqualim, P., Fin, M. T., Sasso, D. G. B., Kaminski, G. A. T., Fujiwara, G. M., Nunes, P. M. P., Rodrigues, B. H., Dias, J. F. G., & Zanin, S. M. W. (2010). Importância de parâmetros de controle na elaboração de micropartículas de Ca^{2+} -alginato. *Visão Acadêmica*, 11, 38-44.
- Das, N. (2010). Recovery of precious metals through biosorption - a review. *Hydrometallurgy*, 103, 180-189.
- Das, D., Varshini, C. J. S., & Das, N. (2014). Recovery of lanthanum (III) from aqueous solution using biosorbents of plant and animal origin: Batch and column studies. *Minerals Engineering*, 69, 40-56.
- Fernández, R. G., & García Alonso, J. I. (2008). Separation of rare earth elements by anion-exchange chromatography using ethylenediaminetetraacetic acid as mobile phase. *Journal of Chromatography A*, 1180, 59-65.
- Fraser J.E., & Bickerstaff G.F. (1997) Entrapment in calcium alginate. In: Bickerstaff, G.F. (eds) Immobilization of Enzymes and Cells. *Methods in Biotechnology*, vol 1. Humana Press.
- Freeman, A., & Lilly, M. D. (1998). Effect of processing parameters on the feasibility and operational stability of immobilized viable microbial cells. *Enzyme and Microbial Technology*, 23, 335-345.
- Freundlich H. (1906). Over the adsorption in solution. *The Journal of Physical Chemistry*, 57, 384-410.
- Giese, E. C. (2015a). Biocatalisadores imobilizados: Prospecção de inovações tecnológicas na última década. *Revista GEINTEC: gestão, inovação e tecnologias*, 5, 2296-2307.
- Giese, E. C. (2015b). Potencial biotecnológico do uso de micro-organismos imobilizados em gel de alginato de cálcio. *Série Tecnologia Ambiental*, 81. CETEM/MCTIC, 49p.
- Giese, E. C., Magalhães, D. P., & Egler, S. G. (2016). Biossorção de elementos de terras-raras. *Série Tecnologia Mineral*, 90. CETEM/MCTIC, 75p.
- Giese, E. C. (2017). Tendências europeias para o uso dos recursos de terras-raras. *Série Estudos e Documentos*, 93. CETEM/MCTIC, 30p.
- Kratochvil, D. E., & Volesky, B (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. *Reviews Tibtech*, 16, 291-300.
- Langmuir, I. (1918). Adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society*, 40, 1361-1403.
- Loukidou, M. X., Zouboulis, A. I., Karapantsios, T. D., & Matis, K. A. (2004). Equilibrium and kinetic modeling of chromium (VI) biosorption by *Aeromonas caviae*. *Colloids and Surfaces*, 242, 93-104.
- Martinez, R. E., Pourret, O., & Takahashi, Y. (2014). Modeling of rare earth element sorption to the Gram-positive *Bacillus subtilis* bacteria surface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 413, 106-111.
- Merroun, M. L., Ben Chekroun, K., Arias, J. M., & Gonzalez-Muñoz, M. T. (2003). Lanthanum fixation by *Myxococcus xanthus*: cellular location and extracellular polysaccharide observation. *Chemosphere*, 52, 113-120.
- Michalak, I., Choinacka, K., & Witek-Krowiak, A. (2013). State of the art for the biosorption process – a review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170, 1389-1416.
- Muraleedharan, T. R., Philip, L., Iyengar, L., & Venkobachar, C. (1994). Application studies of biosorption for monazite processing industry effluents. *Bioresource Technology*, 49, 179-186.

- Oliveira, R. C., Guibal, E., & Garcia Jr., O. (2012). Biosorption and desorption of lanthanum(III) and neodymium (III) in fixed-bed columns with *Sargassum* sp.: Perspectives for separation of rare earth metals. *Biotechnology Letters*, 28, 715-722.
- Silva Júnior, A. F., & Campos, M. F. (2016). Relevância das terras raras para o setor energético. *HOLOS*, 1, 350-364.
- Streat, M. (1986) Applications of Ion Exchange in Hydrometallurgy. In: Rodrigues, A.E. (eds) *Ion Exchange: Science and Technology*. NATO ASI Series (E: Applied Sciences), vol 107. Springer, Dordrecht.
- Takahashi, Y., Chatellier, T. X., Hattori, K. H., Kato, K., & Fortin, D. (2005). Adsorption of rare earth elements onto bacterial cell walls and its implication for REE sorption onto natural microbial mats. *Chemical Geology*, 219, 53-67.
- Takahashi, Y., Yamamoto, M., Yamamoto, Y., & Tanaka, K. (2010). EXAFS study on the cause of enrichment of heavy REEs on bacterial cell surfaces. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 5443-5462.
- Texier, A. C., Andrès, Y., Faur-Brasquet, C., & Le Cloireç, P. (2002). Fixed-bed study for lanthanide (La, Eu, Yb) ions removal from aqueous solutions by immobilized *Pseudomonas aeruginosa*: experimental data and modelization. *Chemosphere*, 47, 333-342.
- Tsuruta, T. (2002). Removal and recovery of uranyl ion using various microorganisms. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94, 23-28.
- Tsuruta, T. (2005). Separation of rare earth elements by microorganisms. *Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences*, 6, 81-84.
- Tsuruta, T. (2006a). Bioaccumulation of uranium and thorium from the solution containing both elements using various microorganisms. *Journal of Alloys and Compounds*, 408-412, 1312-1315.
- Tsuruta, T. (2006b). Selective accumulation of light or heavy rare earth elements using gram-positive bacteria. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 52, 117-122.
- Tsuruta, T. (2007). Accumulation of rare earth elements in various microorganisms. *Journal of Rare Earths*, 25, 526-532.
- Vera, Y.M. (2015). Separação de terras raras a partir da extração por solvente: revisão sobre o uso dos extratantes ácidos organofosforados. *Série Tecnologia Mineral*, 94. CETEM/MCTIC, 59p.
- Vijayaraghavan, K., & Yun, Y-S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*, 26, 266-291.
- Vos, P., Bucko, M., Gemeiner, P., Navrátil, M., Stivel, J., Faas, M., Strand, B. L., Skjak-Braek, G., Morch, Y. A., Vikartovská, A., Lacik, I., Kolláriková, G., Orive, G., Poncelet, D., Pedraz, J. L., & Ansoorge-Schumacher, M. B. (2009). Multiscale requirements for bio-encapsulation in medicine and biotechnology. *Biomaterials*, 30, 2559-2570.
- Wang, F., Zhao, J., Wei, X., Huo, F., Li, W., Hu, Q., & Liu, H. (2014), Adsorption of rare earths (III) by calcium alginate-poly glutamic acid hybrid gels. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89, 969-977.
- Xu, S., Wang, Z., Gao, Y., Zhang, S., & Wu, K. (2015). Adsorption of rare earths (III) using an efficient sodium alginate hydrogel cross-linked with poly-γ-glutamate. *PLOS One*, 10, e0124826. doi:10.1371/journal.pone.0124826